

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Tanaman Pacar Air

##### 2.1.1. Klasifikasi



**Gambar 2.1** Tanaman Pacar Air (*Impatiens balsamina* L) (Dalimartha, 2003)

Kingdom : Plantae  
Divisi : Magnoliophyta  
Sub-divisi : Spermatophhyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Ordo : Geraniales  
Famili : Balsaminaceae  
Genus : *Impatiens*  
Spesies : *Impatiens balsamina* Linn  
(Depkes, 1994)

##### 2.1.2. Sinonim

*Impatiens cornuta* Linn, *Impatiens hortensis* Desf., *Impatiens mutila* DC, *Impatiens triflora* Blanco, *Balsamina mutila* DC (Utami, 2008).

##### 2.1.3. Nama Daerah

Sumatera	: lahine, paruina, bunga tabu, inay ayer, pacar ayer, laka kecil
Jawa	: kimhong, pacar cai, pacar banyu
Nusa Tenggara	: pacar foya, pacar aik

Sulawesi : tilanggele duluko, kolondigi unggaaugu  
 Maluku : bunga jabelu, giabebe dumule, laka gofu  
 (Wijayakusuma, 2000)

#### **2.1.4. Morfologi**

Pacar air merupakan tanaman terna berakar serabut, berbatang basah, lunak, bulat, bercabang, warna hijau kekuningan. Tanaman pacar air biasanya dijadikan tanaman hias dengan tinggi 30-80 cm. Arah tumbuhnya tegak dengan percabangan monopodial. Daun pacar air berwarna hijau muda, dengan panjang 6-15 cm dan lebar 2-3 cm, daun tunggal, tersebar, berhadapan atau dalam karangan, berbentuk lanset memanjang dengan pinggir bergerigi dan ujung daun meruncing (Wijayakusuma, 2000).

Buah tanaman pacar air terdiri dari bakal buah menumpang, memiliki 4-5 ruang. Dalam satu ruangan tersebut terdapat dua atau lebih bakal biji. Buah berbentuk elliptis, dapat pecah dengan mudah. Buah kendaga dan jika matang, akan membuka menjadi 5 bagian yang terpilin. Bunga terkumpul 1-3, daun kelopak samping berbentuk corong miring dan terdapat noda kuning di dalamnya. Daun mahkota memanjang berjumlah 5, lepas atau sebagian melekat, dengan panjang 2-2,5 cm yang bersatu dengan kuku. Ada 5 benangsari dengan tangkai sari yang pendek, lepas, agak bersatu. Kepala sari bersatu membentuk tudung putih. Bunga berwarna cerah dan memiliki beberapa warna seperti merah, oranye, ungu, putih, dan lain-lain. (Wijayakusuma, 2000; Utami, 2008).

#### **2.1.5. Ekologi dan Penyebaran**

Tanaman pacar air berasal dari Asia Selatan dan Asia Tenggara, ada juga yang menyebutnya dari India. Tanaman ini diperkirakan di Amerika pada abad ke-19. Pacar air dapat hidup pada daerah beriklim semi tropikal, namun tidak dapat hidup pada daerah yang kering dan gersang (Dalimartha, 2014). Pacar air sangat peka terhadap hama, begitu terkena hama, tanaman akan langsung busuk. Pacar air tumbuh di pekarangan rumah pada ketinggian 1-900 meter diatas permukaan air laut, dengan hanya menebar biji dari buah tanaman tersebut (Nuzul, 2012).

#### **2.1.6. Manfaat Tanaman**

Bagian tanaman yang dapat digunakan adalah akar, daun, bunga, dan biji. Menurut Wang *et al*, (2009) tanaman *I. balsamina* memiliki aktivitas sebagai

antifungi, antibakteri, antipruritik, anti-anafilaksis, dan antitumor. Akar pacar air dapat digunakan sebagai peluruh haid (*emenagog*), anti-inflamasi, rematik, kaku leher, kaku pinggang, sakit pinggang, dan lain-lain. Daun pacar air dapat mengobati keputihan (*leucorrhoea*), nyeri haid (*dysmenorrhoea*), radang usus buntu kronis (*cronic appendicitis*), anti-inflamasi, tulang patah atau retak (fraktur), analgesik, bisul (*furunculus*), radang kulit (dermatitis) dan radang kuku (Hariana, 2013).

Bunga pacar air dapat digunakan sebagai peluruh haid (*emenagog*), tekanan darah tinggi (hipertensi), pembengkakan akibat terpukul (hematoma), bisul (*furunculus*), rematik sendi, gigitan ular tidak berbisa, dan radang kulit (dermatitis). Biji pacar air dapat digunakan sebagai peluruh haid (*emenagog*), terlambat haid (*amenorrhea*), dan mempermudah persalinan (Hariana, 2013).

#### **2.1.7. Kandungan Kimia Tanaman**

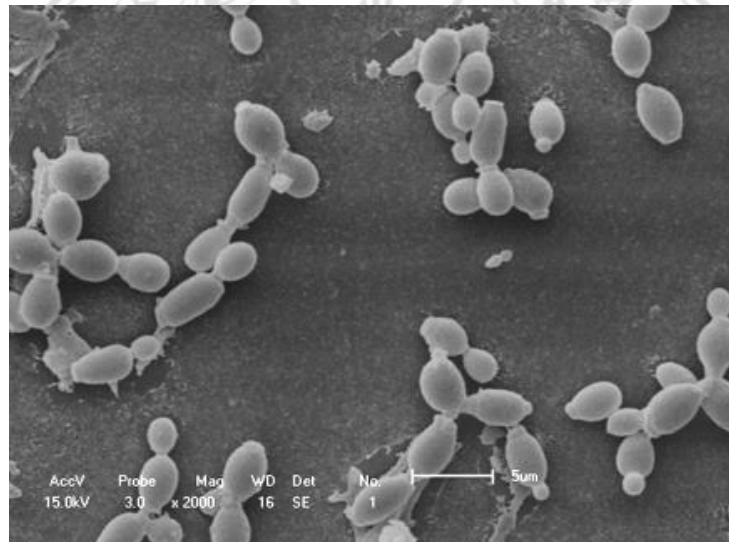
Tanaman pacar air mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yaitu kumarin, flavonoid, kuinon, saponin dan steroid (Adfa, 2008). Daun pacar air mengandung senyawa naftaquinon, turunan kumarin, flavonoid dan steroid (Panichayupakaranant, 2001). Bunga pacar air mengandung antosianin, kaemferol, flavonoid dan kuersetin (Yang *et al*, 2001). Biji pacar air mengandung fixed oil, saponin, balsaminasterol, naftaquinon, minyak atsiri dan kuersetin. Akar pacar air mengandung sianidin monoglikosida (Yuniarti, 2001; Dalimartha, 2014).

## 2.2. Tinjauan tentang *Candida albicans*

### 2.2.1. Taksonomi

Jamur *Candida albicans* dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Fungi
Phyllum	: Ascomycota
Subphyllum	: Saccharomycota
Kelas	: Saccharomyces
Ordo	: Saccharomycetales
Family	: Saccharomycetaceae
Genus	: <i>Candida</i>
Spesies	: <i>Candida albicans</i> (Tortora, 2002)



**Gambar 2.2** *Candida albicans* (Fiorini, 2016)

### 2.2.2. Morfologi

Pada media *Sabouraud Dextrose Agar* yang dieramkan pada suhu kamar, *C. albicans* berbentuk koloni-koloni lunak berwarna coklat, agak mengkilat dengan permukaan halus, yang mempunyai bau seperti ragi. Pada media agar *corn-meal*, *C. albicans* dapat membentuk kladospore dan lebih mudah dibedakan melalui bentuk pseudomiselium (bentuk filamen) (Lodder, 1970). Secara mikroskopik, *C. albicans* merupakan organisme eukariot uniseluler. Sel ragi dan sel tunas umumnya berbentuk bulat, oval, sampai hampir silindris, dengan ukuran 2-7 x 3-8,5 µm (DayJo, 2003). Jamur ini dapat tumbuh pada variasi pH yang luas, tetapi

pertumbuhannya akan lebih baik pada pH antara 4,5-6,5 dalam perbenihan dengan suhu 28°C–37°C. (Jawetz *et al*, 1996).

Jamur dengan famili Saccharomycetaceae ini merupakan organisme anaerob fakultatif yang mampu melakukan metabolisme sel, baik dalam suasana anaerob maupun aerob. Pada kondisi aerob, *C. albicans* mempunyai waktu generasi yang lebih panjang yaitu 248 menit, sedangkan pada kondisi anaerob hanya 98 menit (Biswas, SK, and Chaffin, WL, 2005; Kusumaningtyas, 2008).

Pada keadaan normal, *C. albicans* berada dalam bentuk ragi, yang merupakan sel tunggal (Ryan, 1994; Volk, WA, Brown, JC, 1997). Dalam bentuk ini, jamur tersebut bereproduksi dengan membentuk blastospora, yaitu spora yang dibentuk dengan pembentukan tunas. Dalam proses tersebut, sel ragi pada jamur membentuk tunas yang kemudian tumbuh semakin besar, menghasilkan rantai sel memanjang yang menyempit atau mengerut diantara sel (Jawetz *et al*, 2013; Deacon, 1997).



**Gambar 2.3** Bentuk *Candida albicans*. A: Blastokonidia (blastospora) dan pseudohifa dalam eksudat. B: Blastokonidia, pseudohifa, dan klamidokonidia (klamidospora) dalam biakan pada suhu 30°C. C: Biakan muda membentuk tabung-tabung benih bila diletakkan dalam serum selama 3 jam pada suhu 37°C (Jawetz *et al*, 2013).

Pada pengamatan secara mikroskopik, sel ragi *C. albicans* dapat terlihat dalam bentuk bertunas tunggal ataupun multipel (DayJo, 2003). Pada kondisi tertentu, termasuk pada saat menginfeksi, jamur ini dapat mengalami perubahan morfologi menjadi lebih bersifat invasif, yaitu bentuk hifa atau miselial atau *filamentous* (Ryan, 1994). Transisi morfologi ini merupakan bentuk adaptasi *C. albicans* terhadap lingkungan sekitarnya. Dalam bentuk miselial, *C. albicans* membentuk hifa dan pseudohifa. Hifa berbentuk tabung, terbentuk dari blastospora

yang terus menerus mengalami pertumbuhan. Pseudohifa terbentuk dari sel tunas, seperti blastospora, yang bermultiplikasi, tetapi sel anak tidak lepas dari sel induknya dan terus menerus memanjang menyerupai hifa, sehingga terdapat septum antara blastospora dan bagian sel yang tumbuh, serta pada bagian ini terdapat bagian yang menyempit (Ryan, 1994; Deacon, 1997).

Bila spesies *Candida* berada di lingkungan yang tidak optimal untuk melakukan pertumbuhan ataupun ditanam pada media tertentu, seperti media agar *Cornmeal Tween 80* yang diinkubasi pada suhu 25°C ataupun media *Ricecream Agar Tween* (RAT) yang diinkubasi pada suhu 28°C, organisme ini dapat membentuk klamidospora, yaitu spora aseksual yang terbentuk dari suatu sel atau segmen hifa yang membulat dan membesar, serta dindingnya mengalami penebalan. (Tortora *et al*, 1998; Deacon, 1997; Volk, WA, Brown, JC, 1997). Klamidospora dibentuk di sepanjang hifa berseptum dan semakin lama semakin banyak sehingga hifa tertutup dan tidak lagi terlihat jelas. Klamidospora biasanya dihasilkan dari pseudohifa setelah spesies *Candida* yang dibiakkan selama 24 jam. Kondisi semi anaerob diduga merupakan faktor yang sangat mendukung dalam pembentukan klamidospora. Faktor-faktor yang dapat menghambat pembentukan klamidospora adalah cahaya dan obat antijamur (DayJo, 2003; Volk, WA, Brown, JC, 1997).

*C. albicans* jauh lebih sering terjadi daripada spesies lainnya dalam menyebabkan infeksi simtomatik. Spesies *Candida* lain yang kadang-kadang dapat menyebabkan penyakit seperti *C. parapsilosis* dan *C. tropicalis*. Spesies *Candida* lain yang hidup di tanah dan kadang-kadang terdapat sebagai flora normal manusia dan jarang mengakibatkan penyakit pada manusia meliputi *C. pseudotropicalis*, *C. krusei*, *C. stellatiodea*, dan *C. guilliermondii*. Hanya sel-sel bertunas dari biakan 24 jam *C. albicans* (dan *C. stellatiodea*) dan bukan spesies lain akan membentuk tabung benih dalam 2-3 jam bila diletakkan dalam serum pada suhu 37°C. (Jawetz *et al*, 2013).

### 2.2.3. Patogenesis

Tahap pertama dalam proses infeksi *C. albicans* ke tubuh hewan atau manusia adalah tahap adhesi atau perlekatan. Kemampuan *C. albicans* melekat pada sel pejamu yang merupakan tahap penting dalam pembentukan koloni dan

penyerangan atau invasi ke sel pejamu. Dinding sel merupakan bagian sel dari *C. albicans* yang pertama berinteraksi dengan sel pejamu (Tjampakasari, 2006; Kusumaningtyas, 2008). Interaksi antara mikroorganisme dan sel pejamu diperantarai oleh komponen spesifik dari dinding sel mikroorganisme, adhesin dan reseptor. Manan dan manoprotein merupakan molekul-molekul *C. albicans* yang mempunyai aktifitas adhesi. Kitin, komponen kecil yang terdapat dalam dinding sel yang juga berperan dalam aktifitas adhesi (Tjampakasari, 2006).

Setelah tahap perlekatan, *C. albicans* berpenetrasi ke dalam sel epitel mukosa. Dalam hal ini, enzim yang berperan adalah aminopeptidase dan asam fosfatase. Proses selanjutnya setelah tahap penetrasi tergantung pada ketahanan tubuh sel pejamu. Jika ketahanan tubuh pejamu tidak baik ataupun terdapat faktor predisposisi, maka keadaan tersebut akan memudahkan invasi *C. albicans* ke dalam jaringan tubuh pejamu (Tjampakasari, 2006). Pada tahap invasi, blastospora akan berkembang menjadi pseudohifa dan tekanan dari pseudohifa akan merusak jaringan sehingga invasi ke dalam jaringan dapat terjadi. Virulensi ditentukan oleh kemampuan jamur tersebut merusak dan invasi ke dalam jaringan. Adapun enzim-enzim yang berperan sebagai faktor virulensi yaitu proteinase, lipase, dan fosfolipase (Kusumaningtyas, 2008; Tjampakasari, 2006).

#### **2.2.4. Penyakit yang Ditimbulkan**

*C. albicans* dapat menyebabkan penyakit kandidiasis. Kandidiasis dapat ditemukan pada permukaan kulit, genitalia dan saluran pencernaan. Kandidiasis adalah faktor predisposisi utama dengan daya tahan tubuh hospes yang rendah, seperti pada penderita AIDS atau pasien yang menjalani kemoterapi, dan sebagainya. Faktor predisposisi lain yang dapat menyebabkan tingginya prevalensi kandidiasis antara lain pasien yang menjalani pengobatan dengan antibiotik spektrum luas dalam jangka panjang serta pola makan yang cenderung mengandung gula yang tinggi (Bauman, 2001).

Menurut (Jawetz *et al*, 1996) infeksi yang disebabkan oleh *C. albicans* antara lain:

1. Mulut: infeksi mulut (sariawan) terutama pada bayi, terjadi pada selaput lendir pipi dan tampak sebagai bercak putih yang sebagian besar terdiri atas pseudomiselium dan epitel yang terkelupas.

2. Genitalia wanita: vulvovaginitis menyerupai sariawan tetapi menimbulkan iritasi dan gatal yang hebat disertai pengeluaran lendir. Pada kasus yang berat terdapat pula rasa panas, nyeri sesudah miksi dan *dyspareunia*. Hilangnya pH asam merupakan predisposisi timbulnya vulvovaginitis.
3. Kulit: terutama pada bagian tubuh yang basah, hangat, seperti ketiak, lipatan paha, atau lipatan dibawah payudara. Daerah tersebut menjadi merah dan mengeluarkan cairan dan dapat membentuk vesikel. Infeksi ini paling sering terdapat pada orang gemuk dan penderita diabetes. Infeksi kandida pada kulit antara jari-jari tangan paling sering terjadi bila tangan direndamkan cukup lama dalam air secara berulang kali, ini biasanya terjadi pada pembantu rumah tangga, tukang masak, pengurus sayuran, dan penjual ikan.
4. Kuku: rasa nyeri, bengkak kemerahan pada lipatan kuku, dapat mengakibatkan penebalan, kadang-kadang berwarna kecoklatan, mengeras, berlekuk-lekuk dan akhirnya dapat kehilangan kuku. Sering diderita oleh orang-orang yang pekerjaannya berhubungan dengan air.
5. Paru-paru dan organ lain: infeksi *C. albicans* dapat menyebabkan invasi sekunder pada paru-paru, ginjal, dan organ lain yang sebelumnya telah menderita penyakit lain (misalnya tuberkulosis atau kanker). Pada leukemia yang tidak terkontrol, pada penderita yang memiliki sistem imun rendah atau menjalani pembedahan, lesi oleh *C. albicans* dapat banyak terjadi pada berbagai organ.

#### **2.2.5. Pengobatan Kandidiasis**

Obat yang digunakan untuk infeksi jamur dapat digolongkan sebagai berikut:

- a. Golongan polien
  1. Amfoterisin B

Amfoterisin B diisolasi dari *Streptomyces nodosus*, efektif terhadap hampir semua mikosis sistemik, termasuk kutan dan mukokutan kandidiasis. Amfoterisin juga efektif terhadap mukokutan leishmaniasis, tetapi kurang efektif terhadap bakteri, protozoa atau virus. Obat ini berikatan kuat dengan sterol yang terdapat pada membran sel jamur. Ikatan ini akan menyebabkan membran sel bocor, sehingga terjadi kehilangan beberapa bahan intrasel dan mengakibatkan kerusakan



yang tetap dan dapat berujung pada kematian sel. Absorpsi obat dalam saluran cerna sangat rendah, sehingga lebih banyak diberikan secara infus intravena. (Siswandono dan Soekardjo, 2008; Ganiswara, 1995).

Infus amfoterisin B sering menimbulkan kulit panas, berkeriat, sakit kepala, demam, hipotensi, *dyspnea*, lesu anoreksia, nyeri otot, kejang dan penurunan faal ginjal. Asidosis tubuler ringan dan hipokalemia sering dijumpai tetapi dapat diatasi dengan pemberian kalium. Obat ini dapat digunakan sebagai obat sistemik maupun lokal terhadap infeksi kandidiasis (Ganiswara, 1995).

## 2. Nistatin

Nistatin diisolasi dari *Streptomyces noursei*, digunakan untuk pengobatan topikal dan infeksi kandida pada kulit, membran mukosa, saluran cerna dan vagina. Nistatin juga digunakan secara oral atau setempat, untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh spesies *Candida* dan *Aspergillus* (Siswandono dan Soekardjo, 2008). Sekalipun nistatin mempunyai struktur kimia dan mekanisme kerja mirip amfoterisin B, nistatin lebih toksik sehingga tidak digunakan sebagai obat sistemik (Setiabudy dkk, 1995). Efek samping yang dapat ditimbulkan nistatin adalah mual, muntah, diare pada dosis tinggi, iritasi oral dan sensitisasi, dan ruam (termasuk urtikaria) (IONI 2008).

## b. Turunan Imidazol

### 1. Ketokonazol

Ketokonazol digunakan secara oral untuk pengobatan mikosis sistemik dan mukokutan. Obat ini kurang efektif terhadap aspergilosis dan sporotrichosis. Ketokonazol juga aktif pada penggunaan setempat untuk pengobatan dermatomikosis, infeksi tinea dan kandidiasis kutan. Efek samping yang ditimbulkan seperti mual dan kemungkinan dapat menyebabkan hepatotoksik. Resiko efek samping dapat lebih besar jika diberikan lebih dari 14 hari (Siswandono dan Soekardjo, 2008; IONI, 2008).

### 2. Mikonazol

Mikonazol pada kadar tinggi bila diberikan secara intravena, berfungsi sebagai fungisida, sedangkan pada kadar rendah bila diberikan secara setempat, berfungsi sebagai fungistatik. Absorpsi obat dalam saluran cerna sangat rendah, pemberian intravena menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan, seperti

anemia, hipotremia, leukopenia dan trombositopenia. Mikonazol juga meningkatkan kerja enzim-enzim tertentu di hati sehingga lebih banyak digunakan secara setempat, untuk pengobatan dermatomikosis, kandidiasis mukokutan dan untuk infeksi kornea yang disebabkan oleh spesies *Candida* atau *Aspergillus* (Siswandono dan Soekardjo, 2008).

c. Derivat Triazol

Flukonazol

Flukonazol diabsorpsi dengan baik oleh saluran cerna dan absorpsi tersebut tidak dipengaruhi oleh adanya makanan. Ketersediaan hayatinya di atas 90%, hanya 11-12% terikat oleh protein plasma. Flukonazol digunakan secara oral untuk pengobatan mikosis sistemik, seperti *Cryptococcus meningitis* dan kandidiasis sistemik (Siswandono dan Soekardjo, 2008). Penggunaan obat ini dapat menimbulkan nausea, sakit perut, diare, kembung, anafilaksis dan angiodem (IONI 2008).

d. Atijamur lain

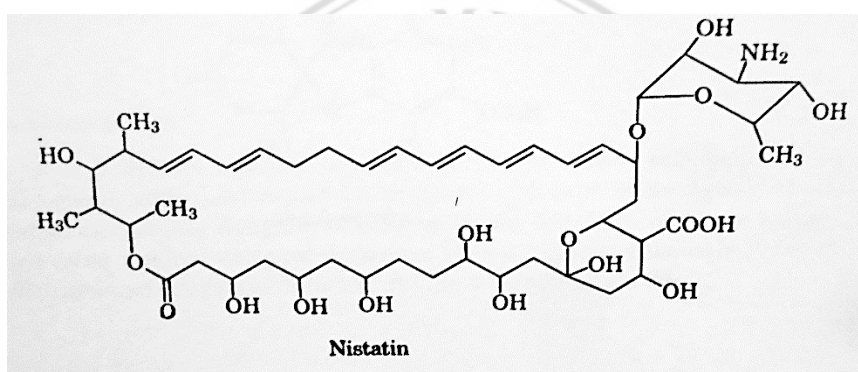
Griseofulvin

Griseofulvin diisolasi dari galur tertentu *Penicillium griseofulvum*, efektif pada pemberian oral, dan hanya bekerja pada jamur yang tumbuh aktif. Griseofulvin secara *in vitro* bersifat fungistatik, dengan spektrum aktivitas antimikotik yang sempit, dan hanya efektif untuk infeksi dermatofita namun tidak efektif untuk kandidiasis. Griseofulvin bekerja dengan cara merusak pembentukan spindle mitosis mikrotubulus jamur sehingga mitosis berhenti pada stadium metafase. Griseofulvin kadang-kadang menimbulkan efek samping antara lain urtikaria, sakit kepala dan rasa tidak nyaman pada lambung (Siswandono dan Soekardjo, 2008).

#### 2.2.6. Daya Kerja Antijamur Nistatin

Nistatin merupakan antifungi turunan polien yang dihasilkan oleh *Streptomyces noursei*. Nistatin menghambat pertumbuhan berbagai fungi dan ragi tetapi tidak terhadap bakteri, protozoa dan virus (Gunawan dkk, 2007). Mekanisme kerja obat ini disebabkan oleh afinitas obat yang sangat besar terhadap ergosterol, suatu komponen sterol yang sangat penting pada membran sel jamur. Panjang molekul antibiotika polien kurang lebih sama dengan molekul lesitin, suatu

komponen membran jamur, sementara sistem ikatan rangkap terkonjugasi kurang lebih sama dengan molekul ergosterol. Bila kedua molekul diatas bertemu pada membran sel jamur, terjadi interaksi hidrofob dan sistem ikatan rangkap akan mengganti interaksi fosfolipid. Kompleks polien-ergosterol yang terjadi dapat membentuk suatu pori, dan melalui pori tersebut konstituen esensial sel jamur bocor keluar sehingga menyebabkan hambatan pertumbuhan jamur. Nistatin digunakan secara oral atau setempat untuk pengobatan infeksi dari spesies *Candida* pada kulit, membran mukosa, saluran cerna dan vagina. (Siswandono dan Soekardjo, 2008).



**Gambar 2.4** Struktur Kimia Nistatin (Siswandono dan Soekardjo, 2008).

### 2.3. Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Depkes, 1995). Ekstraksi merupakan proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan penyari tertentu. Ada beberapa metode ekstraksi, yaitu:

#### 2.3.1. Cara Dingin

##### 1. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Remaserasi berarti dilakukan

pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Depkes, 2000).

## 2. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses ini terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/ penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Depkes, 2000).

### 1.3.2. Cara Panas

#### 1. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes, 2000).

#### 2. Soxhlet

Soxhlet adalah metode ekstraksi untuk bahan yang tahan pemanasan dengan cara meletakkan bahan yang akan diekstraksi dalam sebuah kantong ekstraksi (kertas saring) di dalam sebuah alat ekstraksi dari gelas yang bekerja kontinu (Voight, 1995).

#### 3. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C (Depkes, 2000).

#### 4. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes, 2000).

#### 5. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama ( $\geq 30^\circ \text{C}$ ) dan temperatur sampai titik didih air (Depkes, 2000).

### 1.3.3. Tinjauan Pelarut

Pelarut adalah benda cair atau gas yang melarutkan benda padat, cair atau gas, yang menghasilkan sebuah larutan. Pelarut paling umum digunakan dalam

kehidupan sehari-hari adalah air. Pelarut lain yang umum juga digunakan adalah pelarut organik (mengandung karbon). Pelarut biasanya memiliki titik didih rendah dan lebih mudah menguap, meninggalkan substansi terlarut yang didapatkan. Untuk membedakan antara pelarut dengan zat yang dilarutkan, pelarut biasanya terdapat dalam jumlah yang lebih besar (Guenther, 1987).

Farmakope Indonesia menetapkan bahwa sebagai cairan penyari (pelarut) adalah air, etanol, etanol-air atau eter (Depkes 1986). Pemilihan pelarut harus mempertimbangkan beberapa faktor, yakni sebagai berikut:

1. Selektivitas
2. Kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut
3. Ekonomis
4. Ramah lingkungan (Depkes, 2000).

Dalam penelitian ini digunakan pelarut polar yaitu etanol. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, tidak beracun, netral, dan absorpsinya baik. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kumarin, antrakinin, flavonoid, dan steroid. Lemak, tanin dan saponin hanya sedikit larut, sehingga zat pengganggu yang terlarut hanya sedikit (Depkes, 1986). Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut. Keuntungan lain dari etanol adalah mampu menghambat kerja enzim. Etanol sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif optimal, dimana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turun ke dalam cairan pengeskraksi (Voight, 1995).

#### **1.3.4. Maserasi**

Maserasi merupakan suatu proses ekstraksi dari bahan obat dengan beberapa kali pengocokan atau pemutaran pada suhu kamar, dimana intensitas gerakannya sangat lambat sehingga akan didapat suatu proses keseimbangan. Bahan yang akan diekstraksi dibiarkan kontak dengan pelarut sehingga terjadi keseimbangan antara pelarut dan bahan terlarut (List and Schmidt, 1989).

Salah satu metode maserasi yang biasa digunakan adalah maserasi kinetik. Maserasi kinetik merupakan maserasi yang dilakukan dengan adanya pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Dengan adanya pengadukan tersebut maka pelarut atau cairan penyari akan menembus dinding sel tanaman dan masuk ke dalam

rongga sel yang mengandung bahan aktif. Karena adanya perbedaan konsentrasi larutan antara dalam dan luar sel maka konsentrasi larutan yang lebih pekat akan terdesak keluar sehingga proses ekstraksi menjadi lebih sempurna (Depkes, 2000; Arista, 2013).

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling banyak digunakan dibanding metode ekstraksi lainnya. Keuntungan metode maserasi yaitu hanya menggunakan sedikit sampel. Bahan-bahan tertentu yang mempunyai kandungan lendir lebih tinggi, hasilnya akan lebih optimal apabila diekstraksi dengan maserasi kinetik (List and Schmidt, 1989).

### **1.3.5. Fraksinasi**

Fraksinasi adalah suatu metode pemisahan senyawa organik berdasarkan kelarutan senyawa-senyawa tersebut dalam dua atau lebih pelarut yang tidak saling bercampur, biasanya antara pelarut air dan pelarut organik seperti metanol, etanol, etil asetat, n-heksana dan petroleum eter (Basset, dkk, 1994).

## **1.4. Uji Kepekaan Antimikroba**

Uji aktivitas antimikroba merupakan teknik yang penting dalam ilmu biologi modern. Hal ini dilakukan untuk menentukan resistensi strain mikroba terhadap agen antimikroba yang berbeda, dalam penelitian farmakologi dapat digunakan untuk menentukan sensitivitas antimikroba baru dari ekstrak biologis sehingga dapat menghambat atau membunuh mikroba uji tersebut (Das dkk, 2010). Ada beberapa metode pengujian antimikroba, yaitu sebagai berikut.

### **1.4.1. Metode Dilusi Agar**

Metode dilusi agar adalah metode uji kepekaan *in vitro* yang dilakukan secara kuantitatif dari agen antimikroba terhadap isolat bakteri tertentu dengan mengukur nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*). Metode ini dilakukan dengan membuat cawan berisi media agar yang ditambahkan agen antimikroba dengan berbagai konsentrasi. Cawan tersebut kemudian diinokulasi dengan suspensi yang terstandarisasi untuk tes organisme. Setelah inkubasi pada  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ , tes dikaji dan menentukan nilai MIC. Hasil akhir secara signifikan dipengaruhi oleh metodologi, dimana harus dikendalikan secara hati-hati jika hasil sesuai yang ingin dicapai (dalam laboratorium atau antar laboratorium) (Jiang, 2011; CLSI, 2012).

Metode ini digunakan untuk pengujian bakteri aerobik dan bakteri fakultatif yang tumbuh dengan baik setelah inkubasi semalam di dalam agar *Mueller Hinton* (MHA) bernutrisi atau *Mueller Hinton Broth* (MHB) (Jiang, 2011; CLSI, 2012).

#### **1.4.2. Metode Dilusi Tabung**

Metode ini digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari obat antimikroba atau suatu senyawa yang diduga sebagai antimikroba. Metode dilusi tabung ini menggunakan tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat atau senyawa yang diduga sebagai antimikroba yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya, seri tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung.

Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari obat. Biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasi selama 24 jam. Hasilnya diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari obat terhadap mikroba uji. Dalam hal ini, KHM dapat ditentukan dengan cara menggunakan medium agar padat yang disebut dengan metode *E test* (Dzen *et al*, 2003).

#### **1.4.3. Metode Difusi Cakram**

Pada metode ini, penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambatan yang akan terbentuk disekeliling zat antimikroba pada waktu tertentu masa inkubasi (Brooks *et al*, 2007). Difusi cakram biasanya digunakan untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai macam obat-obatan. Pada cara ini digunakan suatu kertas cakram (*paper disc*) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas cakram tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Pada umumnya, hasil yang didapat bisa diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C.

Hasil pengamatan diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan mikroorganisme (Pelczar and E.S Chan, 1988).

Dzen *et al*, (2003) menyatakan, untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut (apakah isolat mikroba sensitif atau resisten terhadap obat), dapat dilakukan dua cara sebagai berikut:

- a. Cara Kirby Bauer, yaitu dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) di sekitar cakram dengan standar kategori daya hambat. Dengan kategori tersebut dapat diketahui sensitif, intermediet dan resistennya.
- b. Cara Joan Stokes, yaitu dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji. Pada cara Joan Stokes, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar.

Metode difusi cakram memiliki kelebihan dan kekurangan. Kelebihannya adalah mudah dilakukan, praktis, cukup teliti, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah. Sedangkan kelemahannya adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh inkubasi, inokulum, predifusi dan preinkubasi serta ketebalan medium. (Dzen *et al*, 2003; Pelczar and E.S Chan, 1988; Bonang, 1992).

### 1.5. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) dikembangkan oleh Izmailoff dan Scraiber pada tahun 1938. KLT merupakan bentuk kromatografi planar, selain kromatografi kertas dan kromatografi elektroforesis. Berbeda dengan kromatografi kolom yang mana fase diamnya diisikan atau dikemas didalamnya, pada fase diam KLT berupa lapisan yang seragam pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, plat aluminium atau plat plastik (Sastrohamidjojo, 2002).

Dalam mengidentifikasi noda-noda dalam kromatogram sangat lazim menggunakan harga  $R_f$ . Jarak pengembangan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan dengan angka  $R_f$  (Stahl, 1985).

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solut (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak (cm)}}$$



Perhitungan  $R_f$  suatu senyawa yang diuji dan senyawa pembanding harus dilakukan pada plat yang sama. Nilai  $R_f$  dari suatu senyawa akan tetap konstan dari suatu penelitian ke penelitian lainnya jika kondisi kromatografi tersebut juga konstan terhadap:

1. Sistem pelarut
2. Adsorben
3. Ketebalan adsorben
4. Jumlah zat yang ditotolkan
5. Temperatur (suhu) (Stahl, 1985)

Keuntungan KLT dalam pelaksanaannya yaitu lebih mudah dan murah dibandingkan dengan kromatografi lain. Demikian juga peralatan yang digunakan lebih sederhana. Ada beberapa keuntungan lain dari kromatografi lapis tipis ini yaitu:

- a. KLT banyak digunakan untuk tujuan analisis.
- b. Identifikasi pemisahan komponen dapat dilakukan dengan pereaksi warna, fluoresensi, atau radiasi dengan menggunakan ultraviolet.
- c. Dapat dilakukan eluasi secara menaik, menurun atau dengan cara eluasi 2 dimensi.
- d. Ketetapan penentuan kadar akan lebih baik karena komponen yang akan ditentukan merupakan bercak yang tidak bergerak (Sastrohamidjojo, 2002).

#### **1.5.1. Fase Diam**

Fase diam merupakan lapisan penyerap, lapisan dibuat dari salah satu penyerap yang khusus digunakan untuk KLT. Sebelum digunakan, lapisan disimpan dalam lingkungan yang tidak lembab dan bebas dari uap laboratorium. Penyerap yang umum digunakan adalah silika gel, alumunium oksida, selulosa (serat, mikrokristalin), dan poliamida. Fase diam yang sering digunakan adalah silika gel (Stahl, 1985; Narwal, 2009).

#### **1.5.2. Fase Gerak**

Fase gerak adalah medium angkut dan terdiri atas suatu beberapa pelarut. Pelarut bergerak dalam fase diam, yaitu suatu lapisan berpori, karena ada gaya kapiler. Yang digunakan hanyalah pelarut bertingkat atau analitik bila diperlukan, sistem pelarut multi komponen ini harus berupa suatu campuran sesederhana

mungkin yang terdiri atas maksimum tiga komponen. Contoh pelarut yang sering digunakan untuk kromatografi lapis tipis adalah n-heksana, heptana, sikloheksana, benzena, kloroform, eter, etil asetat, aseton, metanol dan air (Stahl, 1985).

